



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.06.011  
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2017.06.011  
Chinese Journal of General Surgery, 2017, 26(6):735-741.

· 基础研究 ·

# ROCK I/II 基因下调对 TGF- $\beta$ 1 诱导的人主动脉平滑肌细胞迁移及增殖的影响

汪海波, 朱健, 郝二平, 张瑜, 王正, 谢彪, 朱水波

(南方医科大学附属武汉临床医学院 / 中国人民解放军广州军区武汉总医院 心胸外科, 湖北 武汉 430070)

## 摘要

**目的:** 探讨 Rho 激酶 I/II (ROCK I/II) 对转化生长因子  $\beta$  1 (TGF- $\beta$  1) 诱导的人主动脉平滑肌细胞 (HA-VSMCs) 迁移及增殖的影响。

**方法:** 比较转染 ROCK I siRNA、ROCK II siRNA、TGF- $\beta$  1 单独处理、转染 ROCK I siRNA 或 ROCK II siRNA 后加 TGF- $\beta$  1 处理的 HA-VSMCs 中 ROCK I 和 ROCK II 蛋白表达; 比较 TGF- $\beta$  1 单独处理、转染 ROCK I siRNA 或 ROCK II siRNA 后加 TGF- $\beta$  1 处理以及用 ROCK I 抑制剂 Y-27632 后加 TGF- $\beta$  1 处理的 HA-VSMCs 的迁移与增殖能力。实验均以无处理的 HA-VSMCs 为空白对照。

**结果:** 与空白对照 HA-VSMCs 比较, TGF- $\beta$  1 单独处理后 HA-VSMCs 的 ROCK I 蛋白表达明显升高 ( $P < 0.05$ ), 而 ROCK II 蛋白表达无明显变化 ( $P > 0.05$ ); ROCK I siRNA 或 ROCK II siRNA 转染后 HA-VSMCs 中各自靶蛋白表达明显降低 (均  $P < 0.05$ ), TGF- $\beta$  1 诱导的 ROCK I 蛋白表达升高被 ROCK I siRNA 转染明显抑制 ( $P < 0.05$ )。与空白对照 HA-VSMCs 比较, TGF- $\beta$  1 单独处理后 HA-VSMCs 细胞迁移数明显增加 ( $P < 0.05$ ), 该作用被 ROCK I siRNA 转染及 Y-27632 处理明显抑制 (均  $P < 0.05$ ), 而不被 ROCK II siRNA 转染影响 ( $P < 0.05$ ); TGF- $\beta$  1 单独处理后 HA-VSMCs 增殖明显增强 ( $P < 0.05$ ), 而无论 ROCK I siRNA、ROCK II siRNA 转染或 Y-27632 处理均对 TGF- $\beta$  1 的增殖诱导作用无明显影响 (均  $P > 0.05$ )。

**结论:** ROCK I 可能在 TGF- $\beta$  1 诱导的 HA-VSMCs 迁移中起主要作用, 而 ROCK I 和 ROCK II 可能均不参与 TGF- $\beta$  1 诱导的 HA-VSMCs 增殖。

## 关键词

主动脉; 肌, 平滑, 血管; rho 相关激酶类; 细胞运动

中图分类号: R654.3

## Effects of ROCK I/II gene down-regulation on TGF- $\beta$ 1 induced migration and proliferation in human aortic vascular smooth muscle cells

WANG Haibo, ZHU Jian, XI Erping, ZHANG Yu, WANG Zheng, XIE Biao, ZHU Shuibao

(Affiliated Wuhan Clinical Medical College, Southern Medical University/Department of Cardiothoracic Surgery, Wuhan General Hospital of PLA Guangzhou Military Region, Wuhan 430070, China)

基金项目: 湖北省武汉市科技局应用基础研究计划基金资助项目 (2015060101010053)。

收稿日期: 2017-03-13; 修订日期: 2017-05-05。

作者简介: 汪海波, 南方医科大学附属武汉临床医学院 / 中国人民解放军广州军区武汉总医院硕士研究生, 主要从事主动脉夹层方面的研究。

通信作者: 朱水波, Email: zhutian29@163.com

**Abstract**

**Objective:** To investigate the effects of Rho-associated coiled-coil containing protein kinase I/II (ROCK I/II) on migration and proliferation in human aortic vascular smooth muscle cells (HA-VSMCs) induced by transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1).

**Methods:** The protein expressions of ROCK I and ROCK II among HA-VSMCs respectively treated with ROCK I siRNA transfection, ROCK II siRNA transfection, TGF- $\beta$ 1 alone, and ROCK I siRNA or ROCK II siRNA transfection plus TGF- $\beta$ 1 were compared. The migration and proliferation abilities among HA-VSMCs respectively treated with TGF- $\beta$ 1 alone, ROCK I siRNA or ROCK II siRNA transfection plus TGF- $\beta$ 1, and ROCK I inhibitor Y-27632 plus TGF- $\beta$ 1 were compared. Untreated HA-VSMCs were used as blank control for all experiments.

**Results:** Compared with blank control HA-VSMCs, the ROCK I protein expression was significantly increased ( $P < 0.05$ ) but ROCK II protein expression was unchanged ( $P > 0.05$ ) in HA-VSMCs after TGF- $\beta$ 1 alone treatment, the corresponding target protein expression was significantly decreased in HA-VSMCs after ROCK I siRNA or ROCK II siRNA transfection (both  $P < 0.05$ ), and the increased ROCK I protein expression in HA-VSMCs induced by TGF- $\beta$ 1 was significantly inhibited by ROCK I siRNA transfection ( $P < 0.05$ ). Compared with blank control HA-VSMCs, the number of migrating cells in HA-VSMCs after TGF- $\beta$ 1 alone treatment was significantly increased ( $P < 0.05$ ), and this effect was significantly inhibited by ROCK I siRNA transfection or Y-27632 pretreatment (both  $P < 0.05$ ), but was not influenced by ROCK II siRNA transfection ( $P > 0.05$ ); the proliferation in HA-VSMCs was significantly enhanced by TGF- $\beta$ 1 alone treatment, and the TGF- $\beta$ 1-induced proliferation was not affected by either ROCK I siRNA, ROCK II siRNA transfection or Y-27632 pretreatment (all  $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** ROCK I may play a major role in TGF- $\beta$ 1-induced migration of HA-VSMCs, but either ROCK I or ROCK II may not participate in TGF- $\beta$ 1-induced proliferation of HA-VSMCs.

**Key words**

Aorta; Muscle, Smooth, Vascular; rho-Associated Kinases; Cell Movement

**CLC number:** R654.3

主动脉夹层 (aortic dissection, AD) 是一种在主动脉中膜层出现退化, 变性、坏死等病变基础上, 内膜撕裂、血液经裂口注入主动脉壁, 使中膜从外膜剥脱的一种病变。血管平滑肌细胞 (vascular smooth muscle cells, VSMCs) 是主动脉中膜层的主要成分, 其增殖迁移能力的改变在AD形成中发挥着重要作用。Rho激酶 (Rho-associated coiled-coil containing protein kinase, ROCK) 是最早发现的Rho下游效应分子, 属于丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族成员之一。ROCK与多种心血管疾病的发生有关, 并且在血管平滑肌的收缩功能中扮演者重要角色。ROCK包括ROCK I和ROCK II两种亚型, 两者的氨基酸序列具有65%的同源性, 其中激酶区的同源性高达90%<sup>[1]</sup>。在大鼠平滑肌细胞的迁移中, ROCK I起主导作用, 而ROCK II的作用不明显; 在大鼠平滑肌细胞的增殖中, 两者的作用均不明显<sup>[2]</sup>。近期有研究<sup>[3]</sup>显示, 转化生长因子  $\beta$  1 (TGF- $\beta$  1) 可呈浓度依赖性诱导人主动脉平滑肌细胞的增殖和迁移, 从而促使

AD的发生。本研究通过下调VSMC的ROCK I和ROCK II基因, 观察其在TGF- $\beta$  1刺激下对人主动脉平滑肌细胞迁移和增殖的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

细胞: 人主动脉平滑肌细胞 (HA-VSMCs), 购于美国ATCC公司。主要试剂: TGF- $\beta$  1 (美国Peprotech公司); 胎牛血清 (杭州天杭生物科技有限公司); 胰酶-EDTA (吉诺生物医药技术有限公司); DMEM高糖培养基 (HyClone); PBS (吉诺生物医药技术有限公司); 青霉素-链霉素溶液 (100  $\times$ ) (吉诺生物医药技术有限公司); siRNA (广州锐博); Y-27632 (美国Selleck); Opti-MEM I Reduced serum medium (美国Gibco); Lipofectamine 2000 Transfection Reagent (美国Invitrogen); GAPDH (ab37168)、ROCK I (ab45171)

以及 ROCK II (ab125025) (abcam公司); HRP-Goat anti Rabbit (074-1506) (KPL); GNM14170型D-Hanks (吉诺生物医药技术有限公司); AS1086型结晶紫染液 (武汉阿斯本生物技术有限公司); CCK-8检测试剂盒 (C0038) (碧云天生物技术有限公司)。主要仪器: SCO6WE型CO<sub>2</sub>恒温培养箱 (SHEL LAB); SW-CJ-1FD型洁净工作台 (苏净安泰); IX51型倒置显微镜 (OLYMPUS); L400型离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); 3422型 Transwell板 (Corning); DR-200Bs型酶标检测仪 (Diatek)。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 细胞培养** 在37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下用含10%FBS的高塘DMEM培养基培养HA-VSMCs。培养基按照1:100加入青链霉素混合液(含1000 U/mL青霉素和10 mg/mL链霉素)。HA-VSMCs培养达85%~90%融合率时用胰酶消化细胞,用细胞计数板计数,稀释至所需浓度,按照需要进行细胞干预及后续实验。

**1.2.2 siRNA 转染** (1) 转染前1 d,胰酶消化收集细胞,加入不含抗生素的培养基,调整细胞密度为 $2 \times 10^5$ 个/mL,以每孔2 mL接种至6孔板。转染时要求细胞汇合度为50%~60%。(2) 转染液制备 (siRNA 储存液浓度为20  $\mu$ M),每孔用量如下:用190  $\mu$ L Opti-MEI无血清培养基将10  $\mu$ L siRNA稀释,轻轻混匀。使用前轻轻摇匀 Lipofectamine 2000,取20  $\mu$ L Lipofectamine 2000在18  $\mu$ L无血清培养基中稀释,室温孵育5 min。将前2步稀释的siRNA和Lipofectamine 2000混合(总体积400  $\mu$ L),轻轻混匀,室温静置20 min。(3) 将孔板内的培养基更换为不含FBS的DMEM培养基,转染孔加1.6 mL,空白孔加2 mL。(4) 在需要转染的孔中加入400  $\mu$ L转染液,轻轻摇匀。(5) 37℃培养,转染4~6 h后,细胞换液为含FBS的DMEM培养基,24 h后倒置显微镜下观察转染效果,记录图片,48 h后可检测蛋白表达。

**1.2.3 细胞干预实验分组和药物干预 (一)** (1) 空白对照组:正常细胞在完全培养基中培养24 h;(2) ROCK I siRNA组:ROCK I siRNA转染成功的细胞在完全培养基中培养24 h;(3) ROCK II siRNA组:ROCK II siRNA转染成功的细胞在完全培养基中培养24 h;(4) TGF- $\beta$ 1组:正常细胞在含5 ng/mL TGF- $\beta$ 1的完全培养基中培养24 h;

(5) ROCK I siRNA+TGF- $\beta$ 1组:转染 ROCK I siRNA的细胞在含5 ng/mL TGF- $\beta$ 1的完全培养基中培养24 h;(6) ROCK II siRNA+TGF- $\beta$ 1组:转染 ROCK II siRNA的细胞在含5 ng/mL TGF- $\beta$ 1的完全培养基中培养24 h。

**1.2.4 Western blot 检测** 上述细胞培养及干预处理后,PBS洗2~3次,加入适量RIPA裂解液,收集细胞至EP管中,4℃,12 000 r/min离心10 min;使用BCA蛋白质浓度测定试剂盒测定样品蛋白浓度;根据蛋白分子量配制不同浓度SDS-PAGE,样品蛋白上样量为40  $\mu$ g/孔,电泳条件为浓缩胶80 V,分离胶120 V,至溴酚蓝到达胶板下沿,300 mA电流60 min将蛋白转至PVDF膜;将转好的膜加入封闭液室温摇床封闭1 h。除去封闭液,加入用封闭液稀释好的ROCK I和ROCK II抗体4℃过夜;TBST充分洗涤PVDF膜3次,5 min/次,加入用封闭液稀释好的二抗,室温摇床孵育30 min;再用TBST充分洗涤PVDF膜3次,5 min/次,加入适量ECL底物,X光胶片压片后放入显影液显影、定影液定影;使用AlphaEaseFC软件处理系统分析目标带的灰度值,将目的灰度除以内参的灰度,以比较各组目的蛋白的相对表达量。

**1.2.5 细胞干预实验分组和药物干预 (二)** (1) 空白对照组:正常细胞在完全培养基中培养24 h;(2) TGF- $\beta$ 1组:正常细胞在含5 ng/mL TGF- $\beta$ 1的完全培养基中培养24 h;(3) ROCK I siRNA组:转染Rock I siRNA的细胞在含5 ng/mL TGF- $\beta$ 1的完全培养基中培养24 h;(4) ROCK II siRNA组:转染ROCK II siRNA的细胞在含5 ng/mL TGF- $\beta$ 1的完全培养基中培养24 h;(5) Y-27632组:Y-27632是ROCK I选择性抑制剂,正常细胞用10  $\mu$ M Y-27632预处理1 h,之后换培养液,在含5 ng/mL TGF- $\beta$ 1的完全培养基中培养24 h。

**1.2.6 细胞迁移实验 (Transwell 试验)** (1) 配制染液:0.5%的结晶紫溶液,用时用PBS溶液1:5稀释成0.01%的结晶紫染液;(2) 将细胞制成 $10^5$ 个/mL悬液,取1 mL细胞悬液于1 500 r/min离心5 min,弃上清;(3) 加入1 mL无血清培养基,吹打均匀后取200  $\mu$ L细胞悬液放入Transwell小室中;(4) 24孔板中加入500  $\mu$ L含10%FBS的完全培养基,将小室放入板中;(5) 37℃下于CO<sub>2</sub>(含量5%)培养箱中培养48 h;(6) 染色:将小室取出,用PBS洗去培养基,用棉签将上室中的胶和细胞擦除干净,结晶紫染色10 min,洗去表面的结晶紫,

于倒置显微镜下对非细胞接种侧拍照。

**1.2.7 细胞增殖试验 (CCK-8 试验)** (1) 将对数生长期细胞用胰蛋白酶消化, 配制成浓度为  $1 \times 10^5$  个/mL 的细胞悬液, 按 10 000 细胞/孔接种于 96 孔板, 每孔加 100  $\mu$ L, 置于 CO<sub>2</sub> (5%) 培养箱中 37  $^{\circ}$ C 下培养 24 h 以贴壁; (2) 继续培养 24 h 分别更换为 100  $\mu$ L 细胞样品各自对应的含有一定浓度药物的培养基, 对照组更换为含溶剂的培养基, 每个浓度的样本设 5 个重复; (3) 所有孔中加入 10  $\mu$ L CCK-8 溶液, 培养箱中孵育 1~4 h; (4) 使用酶标仪测定 450 nm 光吸收值, 以溶剂处理的细胞为对照组, 不含细胞的培养基为空白组。

### 1.3 统计学处理

结果用 SPSS 软件做方差分析, 统计数据用均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 转染效果鉴定及不同处理后 ROCK I 与 ROCK II 蛋白表达

对 HA-VSMCs 进行 ROCK I siRNA 和 ROCK II siRNA 转染 24 h 后使用倒置显微镜观察转染结果, 镜下可见大量平滑肌细胞转染成功 (图 1)。转染后 48 h, Western blot 检测转染后 ROCK I 和 ROCK II 蛋白表达水平。与空白对照组比较, ROCK I siRNA 组 ROCK I 蛋白表达减少, TGF- $\beta$  1 组 ROCK I 蛋白表达增加 (均  $P < 0.05$ ); 与 TGF- $\beta$  1 组相比, ROCK I siRNA+TGF- $\beta$  1 组 ROCK I 蛋白表达减少 ( $P < 0.05$ ), ROCK II siRNA+TGF- $\beta$  1 组对 ROCK I 蛋白表达无明显影响 ( $P > 0.05$ )。与空白对照组比较, ROCK I siRNA 组 ROCK II 蛋白表达减少 ( $P < 0.05$ ), 而 TGF- $\beta$  1 组 ROCK II 蛋白表达无明显变化 ( $P > 0.05$ ); 与 TGF- $\beta$  1 组比较, ROCK I siRNA+TGF- $\beta$  1 组 ROCK II 蛋白表达无明显变化 ( $P > 0.05$ ), ROCK II siRNA+TGF- $\beta$  1 组 ROCK II 蛋白表达减少 ( $P < 0.05$ ) (图 2)。

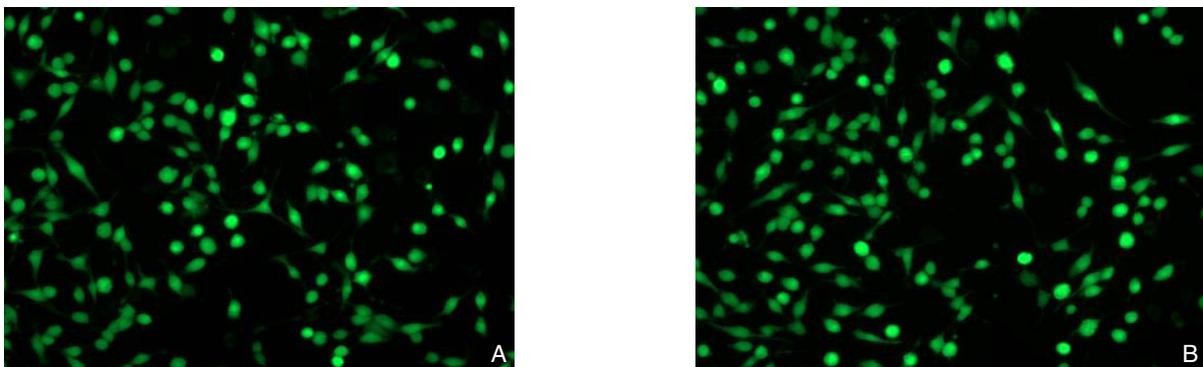


图 1 荧光转染结果 ( $\times 100$ ) A: ROCK I siRNA 转染; B: ROCK II siRNA 转染

Figure 1 Fluorescence transfection results ( $\times 100$ ) A: ROCK I siRNA transfection; B: ROCK II siRNA transfection

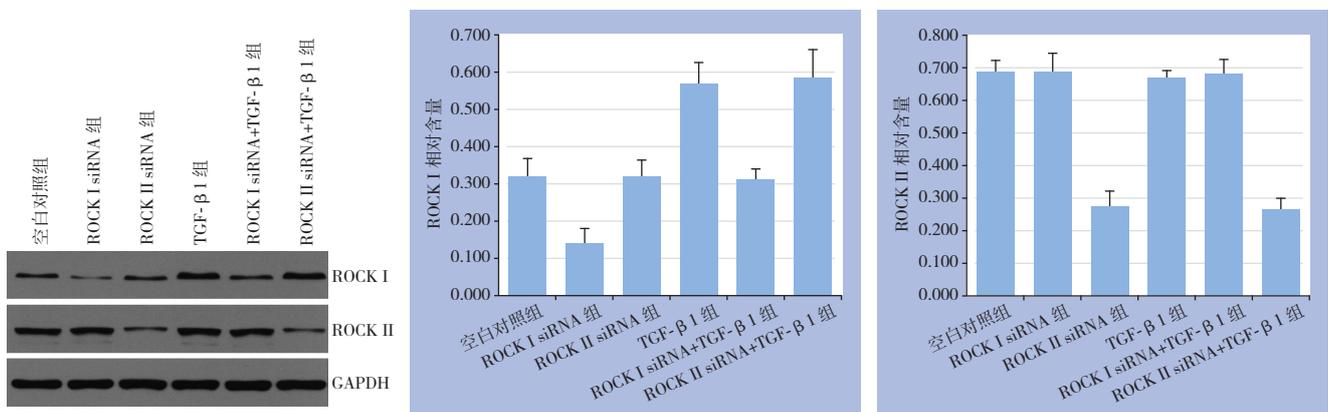


图 2 Western blot 检测 ROCK I 和 ROCK II 蛋白的表达

Figure 2 Western blot analysis of ROCK I and ROCK II protein expressions

## 2.2 ROCK I 和 ROCK II 对 TGF-β 1 诱导的 HA-VSMCs 迁移作用的影响

与空白对照组相比, TGF-β 1 组 HA-VSMCs 迁移细胞数增加 [ ( 208.3 ± 18.9 ) vs. ( 23.8 ± 1.5 ) , P < 0.05 ] ; 与 TGF-β 1 组相比, ROCK I siRNA+TGF-β 1 组、Y-27632+TGF-β 1 组细胞迁移数减少 [ ( 61.0 ± 1.8 ) vs. ( 208.3 ± 18.9 ) ; ( 63.3 ± 7.4 ) vs. ( 208.3 ± 18.9 ) , 均 P < 0.05 ] , 而 ROCK II siRNA+TGF-β 1 组对细胞迁移无明显变化 ( P > 0.05 ) ; 与 Y-27632+TGF-β 1 组比较, ROCK I siRNA+TGF-β 1 组细胞迁移数无统计学差异 [ ( 61.0 ± 1.8 ) vs. ( 63.3 ± 7.4 ) , P > 0.05 ] , 而 ROCK II siRNA+TGF-β 1 组细胞迁移数增加

[ ( 274.5 ± 10.0 ) vs. ( 63.3 ± 7.4 ) , P < 0.05 ] 。对迁移后 Transwell 小室进行结晶紫染色, 倒置显微镜下观察, TGF-β 1 组和 ROCK II siRNA+TGF-β 1 组平滑肌细胞数量较多; Control 组、ROCK I siRNA+TGF-β 1 组和 Y-27632+TGF-β 1 组平滑肌细胞数量较少 ( 图 3 ) 。

## 2.3 ROCK I 和 ROCK II 对 TGF-β 1 诱导的 HA-VSMCs 增殖的影响

与空白对照组相比, TGF-β 1 组 OD 值升高 [ ( 1.350 ± 0.057 ) vs. ( 252 ± 0.061 ) , P < 0.05 ] ; 与 TGF-β 1 组比较, ROCK I siRNA+TGF-β 1 组、ROCK II siRNA+TGF-β 1 组、Y-27632+TGF-β 1 组 OD 值均无统计学差异 ( 均 P > 0.05 ) ( 图 4 ) 。

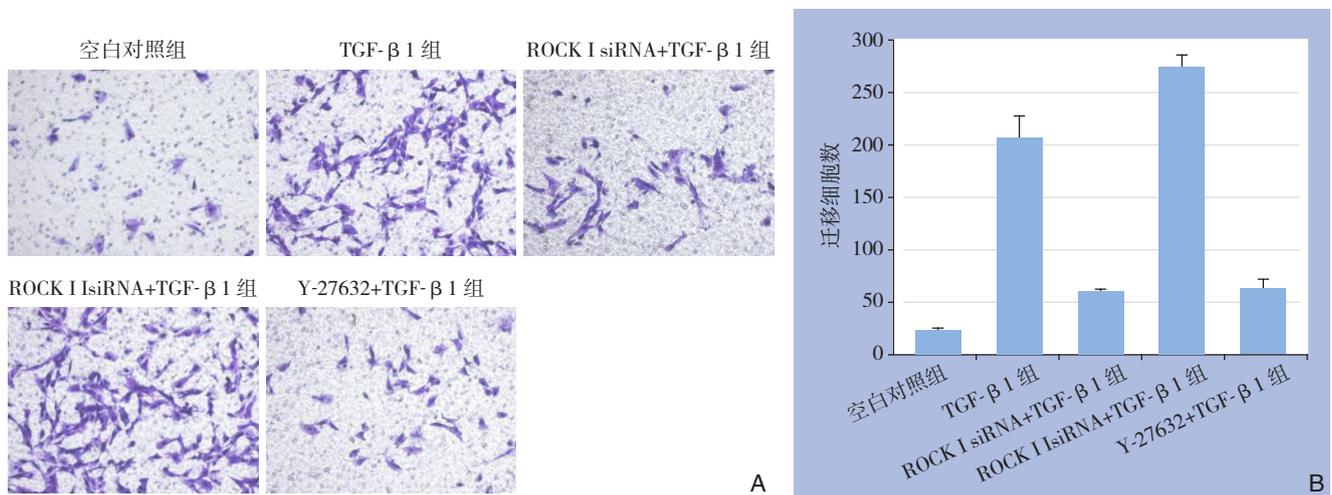


图 3 细胞迁移实验 A: 结晶紫染色法观察 ( × 100 ) ; B: 各组迁移细胞数比较

Figure 3 Cell migration assay A: Crystal violet staining observation ( × 100 ) ; B: Comparison of the numbers of migrating cells among groups

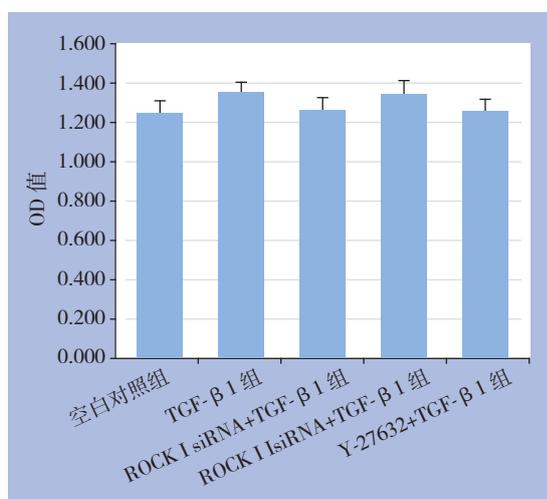


图 4 各组对 HA-VSMCs 增殖情况比较

Figure 4 Comparison of proliferations of among each group of HA-VSMCs

## 3 讨论

近年来, 随着生活水平的提高, AD 的发生率呈逐年增加的趋势。目前, 有关主动脉夹层的回顾性研究分析证实, 胸主动脉腔内修复术 ( thoracic endovascular aortic repair, TEVAR ) 是治疗 AD 的首选治疗方案<sup>[4-9]</sup>。AD 常表现为突然地剧烈撕裂样或剥脱样疼痛, 其起病急、进展快且病死率高<sup>[10]</sup>。因此, 有关 AD 的相关基础研究也成为了目前热点课题。

目前研究表明, AD 的起始病变位于主动脉中膜层 VSMC。在病理刺激下, VSMC 的异常增殖与迁移可导致血管结构重构等一系列病理变化。Rho 蛋白家族是一类小 GTP 结合蛋白, 目前研究最多是 Rho、Rac 和 Cdc42 3 个亚家族, 可通过下游效应

分子的活性参与细胞骨架动力学。ROCK是首个被发现的小G蛋白下游效应分子，与Rho蛋白一起调节细胞肌动蛋白，与细胞的增殖迁移等多种生物功能密切相关<sup>[11]</sup>。ROCK在缺氧环境下促进VSMC的增殖与迁移，且可通过促进MMP-2表达从而促使VSMC增殖<sup>[12-13]</sup>。ROCK包括ROCK I和ROCK II两种亚型。有研究通过siRNA转染下调ROCK I和ROCK II基因表达证实，ROCK I在大鼠平滑肌细胞的迁移中起主导作用，而ROCK II的作用不明显；在大鼠平滑肌细胞的增殖中，两者的作用均不明显。同时又有人通过过表达ROCK I基因证实，ROCK I在大鼠主动脉血管平滑肌细胞的迁移中起主导作用<sup>[14]</sup>；通过自行设计的针对ROCK II的siRNA转染血管平滑肌细胞使其ROCK II基因下调后观察细胞迁移数量并未受到影响<sup>[15]</sup>。在AD患者病变组织的中膜层中发现TGF- $\beta$  1表达明显增强，同时有研究<sup>[16-18]</sup>显示TGF- $\beta$  1可呈浓度依赖性诱导HA-VSMCs发生增殖与迁移，而VSMC是主动脉中膜的主要成分。因此，TGF- $\beta$  1在体内的表达增加诱导HA-VSMCs的增殖与迁移可能是促使主动脉夹层形成的一个重要因素。

为探讨ROCK I和ROCK II对TGF- $\beta$  1诱导的HA-VSMCs迁移增殖的影响。本研究利用siRNA技术，使HA-VSMCs的ROCK I和ROCK II基因表达下调，并分别对比加入TGF- $\beta$  1组和未加入TGF- $\beta$  1组的ROCK I和ROCK II蛋白表达，结果发现TGF- $\beta$  1对转染后的蛋白表达有显著影响。又通过Transwell试验和CCK-8试验检测ROCK两种亚型对TGF- $\beta$  1诱导的HA-VSMCs迁移和增殖的影响。结果显示，与TGF- $\beta$  1组相比，ROCK I siRNA+TGF- $\beta$  1组和Y-27632+TGF- $\beta$  1组对HA-VSMCs迁移起抑制作用，ROCK II siRNA+TGF- $\beta$  1组则无明显作用。与TGF- $\beta$  1组相比，ROCK I siRNA、ROCK II siRNA、Y-27632对HA-VSMCs增殖均没有明显影响。由此可见，ROCK I在TGF- $\beta$  1诱导的HA-VSMCs迁移中起重要作用，而ROCK II的作用不明显；ROCK I和ROCK II对TGF- $\beta$  1诱导的HA-VSMCs增殖的影响无统计学差异。

在AD患者中膜层平滑肌细胞的迁移、增殖能力明显增强，发生了由收缩型向合成型的表型转化<sup>[19]</sup>。有研究<sup>[20]</sup>显示，TGF- $\beta$  1可诱导HA-VSMCs发生表型转化，其收缩型的标志蛋白 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白(smooth muscle  $\alpha$ -actin,  $\alpha$ -SMA)、

平滑肌22 $\alpha$  (smooth muscle 22 $\alpha$ , SM22 $\alpha$ )减少，合成型的标志蛋白骨桥蛋白(osteopontin, OPN)增加。因此，下一步将进一步探讨ROCK I和ROCK II对TGF- $\beta$  1诱导的HA-VSMCs表型转化的影响，对主动脉夹层的机制进行进一步的探索。

#### 参考文献

- [1] Noma K, Oyama N, Liao JK. Physiological role of ROCKs in the cardiovascular system[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(3):C661-668.
- [2] 赵莹, 杨福春, 魏晓晴, 等. ROCK I/II基因下调对血管平滑肌细胞迁移及增殖的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2009, 9(17):3232-3234.  
Zhao Y, Yang FC, Wei ZQ, et al. Effects of ROCK I/II gene expression down-regulated on migration and proliferation of vascular smooth muscle cells[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2009, 9(17):3232-3234.
- [3] 朱水波, 周孜孜, 郗二平, 等. 不同浓度转化生长因子 $\beta$ 1对人主动脉平滑肌细胞增殖及迁移的影响[J]. *临床外科杂志*, 2016, 24(5):366-368. doi:10.3969/j.issn.1005-6483.2016.05.016.  
Zhu SB, Zhou ZZ, Xi EP, et al. Effects of TGF- $\beta$ 1 on proliferation and migration of human aortic vascular smooth muscle cells[J]. *Journal of Clinical Surgery*, 2016, 24(5):366-368. doi:10.3969/j.issn.1005-6483.2016.05.016.
- [4] 朱水波, 朱健, 郗二平, 等. 不开胸“杂交”手术治疗主动脉弓部夹层的近中期随访研究[J]. *中国胸心血管外科临床杂志*, 2016, 23(10): 988-991. doi: 10.7507/1007-4848.20160236.  
Zhu SB, Zhu J, Xi EP, et al. Hybrid Procedure without Sternotomy for Aortic Arch Dissection: A Short- and Mid-term Follow-up[J]. *Chinese Journal of Clinical Thoracic and Cardiovascular Surgery* 2016, 23(10):988-991. doi: 10.7507/1007-4848.20160236.
- [5] 张瑜, 朱健, 朱水波, 等. 累及弓部主动脉夹层手术方式选择及疗效[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(6):823-827. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.06.007.  
Zhang Y, Zhu nJ, Zhu SB, et al. Selection of surgical procedures and efficacy analysis in treatment of aortic dissection involving aortic arch[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2016, 25(6):823-827. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.06.007.
- [6] 朱健. 腔内修复术救治胸主动脉创伤的动物实验与临床研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013:85.  
Zhu J. Endovascular aortic repair rescuing thoracic aortic trauma: animal experimental and clinical studying[D]. Guangzhou: Southern Medical University 2013:85.
- [7] 郗二平, 朱健, 朱水波, 等. 腔内修复术治疗急性慢性Debakey III型夹层的临床研究[J]. *中华全科医学*, 2013, 11(5): 686-688.

- Xi EP, Zhu J, Zhu SB, et al. The Clinical Studying of Endovascular Aortic Repair for Acute and Chronic Aortic Dissection[J]. Chinese Journal of General Practice, 2013, 11(5): 686-688.
- [8] 朱水波, 朱健, 郝二平, 等. 胸主动脉腔内修复术治疗复杂性胸主动脉夹层的临床疗效[J]. 中国循环杂志, 2016, 31(8):789-792. doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2016.08.015.
- Zhu SB, Zhu J, Xi EP, et al. Clinical Efficacy of Thoracic Endovascular Aortic Repair for Treating the Patients With Complicated Thoracic Aortic Dissection[J]. Chinese Circulation Journal, 2016, 31(8):789-792. doi:10.3969/j.issn.1000-3614.2016.08.015.
- [9] 朱健, 郝二平, 朱水波, 等. 主动脉腔内修复术救治胸主动脉破裂的临床观察[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(12):1689-1693. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.12.004.
- Zhu J, Xi EP, Zhu SB, et al. Clinical observation of thoracic endovascular aortic repair for emergency treatment of thoracic aortic rupture[J]. Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(12):1689-1693. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.12.004.
- [10] Howard DP, Banerjee A, Fairhead JF, et al. Population-based study of incidence and outcome of acute aortic dissection and premorbid risk factor control: 10-year results from the Oxford Vascular Study[J]. Circulation, 2013, 127(20):2031-2037. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000483.
- [11] Schofield AV, Bernard O. Rho-associated coiled-coil kinase (ROCK) signaling and disease[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2013, 48(4):301-316. doi: 10.3109/10409238.2013.786671.
- [12] Walker J, Udem C, Yun X, et al. Role of Rho kinase and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in hypoxia-induced pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation and migration[J]. Physiol Rep, 2016, 4(6):pii:e12702. doi: 10.14814/phy2.12702.
- [13] Cui Y, Sun YW, Lin HS, et al. Platelet-derived growth factor-BB induces matrix metalloproteinase-2 expression and rat vascular smooth muscle cell migration via ROCK and ERK/p38 MAPK pathways[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 393(1/2):255-263. doi: 10.1007/s11010-014-2068-5.
- [14] 林海双, 赵莹, 高颖. ROCK对PDGF介导血管平滑肌细胞迁移分子机制的研究[C]//泛环渤海地区九省市生物化学与分子生物学会——2011年学术交流会论文集. 太原: 泛环渤海地区九省市生物化学与分子生物学会——2011年学术交流会委员会, 2011:116-117.
- Lin SH, Zhao Y, Gao Y. Mechanism of ROCK in PDGF mediated migration of vascular smooth muscle cells[C]//Society of Biochemistry and Molecular Biology of Nine Provinces in Pan-Bohai Sea Region——Proceedings of the 2011 Academic Symposium. Taiyuan: Society of Biochemistry and Molecular Biology of Nine Provinces in Pan-Bohai Sea Region——Committee of the 2011 Academic Symposium, 2011:116-117.
- [15] 张金超. ROCK-II基因表达下调与血管平滑肌细胞迁移的关系[D]. 大连:大连医科大学, 2008:1-48.
- Zhang JC. Down-regulation of ROCK-II and the migration of vascular smooth muscle cell[D]. Dalian: Dalian Medical University, 2008:1-48.
- [16] Grond-Ginsbach C, Pjontek R, Aksay SS, et al. Spontaneous arterial dissection: phenotype and molecular pathogenesis[J]. Cell Mol Life Sci, 2010, 67(11):1799-1815. doi: 10.1007/s00018-010-0276-z.
- [17] Wang X, LeMaire SA, Chen L, et al. Increased collagen deposition and elevated expression of connective tissue growth factor in human thoracic aortic dissection[J]. Circulation, 2006, 114(1 Suppl):I200-205.
- [18] 杨守国, 王春生, 陈昊, 等. 胸主动脉夹层动脉壁TGF- $\beta$ 1表达与细胞外基质分布[J]. 中华胸心血管外科杂志, 2010, 26(1):33-36. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-4497.2010.01.013.
- Yang SG, Wang CS, Chen H, et al. TGF- $\beta$ 1 expression and distribution in the extracellular matrix of the dissected wall of thoracic aorta[J]. Chinese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2010, 26(1):33-36. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-4497.2010.01.013.
- [19] Alexander MR, Owens GK. Epigenetic control of smooth muscle cell differentiation and phenotypic switching in vascular development and disease[J]. Annu Rev Physiol, 2012, 74:13-40. doi: 10.1146/annurev-physiol-012110-142315.
- [20] 周孜孜, 郝二平, 王荣平, 等. 转化生长因子- $\beta$ 1对人主动脉平滑肌细胞表型转化的影响及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(11):2771-2774. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.11.043.
- Zhou ZZ, Xi EP, Wang RP, et al. Effect of transforming growth factor- $\beta$ 1 on human aortic vascular smooth muscle cell phenotype switch and mechanism[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2015, 32(11):2771-2774. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.11.043.

( 本文编辑 宋涛 )

本文引用格式: 汪海波, 朱健, 郝二平, 等. ROCK I/II基因下调对 TGF- $\beta$ 1 诱导的人主动脉平滑肌细胞迁移及增殖的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2017, 26(6):735-741. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.06.011

Cite this article as: Wang HB, Zhu J, Xi EP, et al. Effects of ROCK I/II gene down-regulation on TGF- $\beta$ 1 induced migration and proliferation in human aortic vascular smooth muscle cells[J]. Chin J Gen Surg, 2017, 26(6):735-741. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2017.06.011